

**Vergleichende papierchromatographische
Untersuchungen über das Vorkommen
von Flavonen und cyclischen organischen Säuren
in der Familie der Solanaceen**

Ernst Müller

Vergleichende papierchromatographische Untersuchungen

über das Vorkommen von Flavonen und cyclischen

organischen Säuren in der Familie der Solanaceen

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Ludwig-Maximilians-Universität

zu München

vorgelegt

von

Apotheker

Ernst Müller

aus

Ludwigshafen/Rh.

Oktober 1957



1. Berichterstatter: Professor Dr. L. H ö r h a m m e r
2. Berichterstatter: Professor Dr. E. B a m a n n

Tag der mündlichen Prüfung: 4. Dez. 1957

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Allgemeiner Teil	3
A. Bisherige Untersuchungen über das Vorkommen von Flavonen und cyclischen organischen Säuren in der Familie der Solanaceen	3
B. Eigene Untersuchungen	7
1) Methodik der systematischen Untersuchungen .	7
2) Papierchromatographische Untersuchungen der Glykoside	8
3) Charakterisierung einiger Glykoside	11
4) Diskussion der Glykosiduntersuchungen	12
5) Papierchromatographische Untersuchungen der Aglykone nach Hydrolyse der wässrigen Pflan- zenauszüge	13
6) Diskussion der Aglykonuntersuchungen	16
7) Papierchromatographische Untersuchungen der Pflanzenextrakte auf cyclische Pflanzen- säuren	18
a) Methodik	18
b) Diskussion	21
8) Papierchromatographischer Vergleich des Fla- von- und Säuregehaltes diploider und tetra- ploider Solanaceen-Arten	22
a) Kultivierung	24
b) Extraktion und quantitative Papierchroma- tographie	25
c) Ergebnisse	25

9) Zusammenfassung der Untersuchungsergebnisse und Diskussion der möglichen Zusammenhänge zwischen den in den Solanaceen vorkommenden Flavonen und den cyclischen organischen Säuren	27
10) Tabellarische Zusammenstellung der in der Familie der Solanaceen vorkommenden Flavonglykoside, Aglykone und cyclischen organischen Säuren	33
a) Tabelle 5: Vorkommen von Rutin	33
b) Tabelle 6: Vorkommen von Hyperosid	37
c) Tabelle 7: Vorkommen von Kämpferol-3-rhamnoglukosid	38
d) Tabelle 8: Vorkommen von Aglykonen und cyclischen organischen Säuren	39
III. Experimenteller Teil	46
1) Herkunft, Sammelzeit und Trocknung der Pflanzen	46
2) Herstellung des Gesamtauszuges	46
3) Aufarbeitung des Gesamtauszuges für papierchromatographische Untersuchungen	47
4) Hydrolyse	48
a) Hydrolyse der Extrakte	48
b) Hydrolyse reiner Glykoside	49
5) Nachweis der Zucker	49
6) Lösungsmittelsysteme	50
7) Farbteste und chemische Reaktionen	52
a) Entwickeln der Papierchromatogramme ...	52
b) Zirkon-Zitronensäure-Test	54
c) Tauböck-Test	55
d) Sprühtest zur Unterscheidung von Scutellarein und Luteolin	55
8) Isolierung der p-Cumarsäure	56

I. E i n l e i t u n g

Erstes Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Verbreitung von Flavonen in der Familie der Solanaceen festzustellen. Betrachtet man ihr Vorkommen unter dem biogenetischen Gesichtspunkt, so interessieren auch solche Pflanzenstoffe, die man als die biogenetischen Vorstufen der Flavonkörper erkannt hat. Hierzu gehören neben den Chalkonen¹⁾ vor allem die Kaffee-, Chlorogen- und p-Cumarsäure, die zusammen mit anderen phenolischen Körpern, zum Beispiel dem Phloroglucin, zum eigentlichen Flavonmolekül kondensieren. An die papierchromatographische Untersuchung der Flavone hatte sich daher die der cyclischen Pflanzensäuren anzuschließen.

Grundsätzlich gibt es zur Klärung der Biogenese von Pflanzenstoffen zwei Möglichkeiten. Die erste besteht darin, die Biosynthese dieser Substanzen außerhalb der Pflanze in präparativem Maßstab und unter Bedingungen nachzuahmen, wie sie möglicherweise in der Pflanze ablaufen. Anhaltspunkte, wie solche Modellversuche ausgeführt werden sollen, gibt heute die neue Arbeitsrichtung der Substanzmarkierung mit radioaktiven Stoffen²⁾

Die zweite Möglichkeit kann man darin sehen, die Verbreitung bestimmter Stoffgruppen in möglichst vielen Pflanzen zu studieren, um so ein umfangreiches Material zu erhalten und hieraus, sowie aus der genauen Kenntnis der quantitativen Zusammenhänge zwischen dem Endprodukt und der in Frage kommenden biogenetischen Vorstufe, den Syntheseweg abzuleiten.

Solche Überlegungen waren maßgebend für unsere Untersuchungen. Das Hauptaugenmerk war zunächst darauf zu richten, welche Flavontypen vorliegen; zweitens sollte festgestellt werden, ob die von

1) HÖRHAMMER, L. u.
HÄNSEL, R.,

Arch. Pharmaz., Ber. dtsch. pharmaz.
Ges. 287/59, 117 (1954).

2) REZNIK, H. u.
URBAN, R.,

Naturwissenschaften 44, 13 (1957).

T. A. GEISSMAN und E. HINREINER³⁾ und T. A. GEISSMAN und J. B. HARBORNE⁴⁾ erst kürzlich aufgestellte Hypothese, wonach die Kaffeesäure als die Vorstufe von Quercetin und Luteolin und die p-Cumarsäure als die Vorstufe von Apigenin und Kämpferol anzusehen ist, in der Familie der Solanaceen ihre Bestätigung findet.

3) GEISSMAN, T.A. u.
HINREINER, E.,

Bot. Rev. 18, 77 (1952).

4) GEISSMAN, T.A. u.
HARBORNE, J.B.,

Arch. Biochem. Biophys. 55, 447
(1955).

II. Allgemeiner Teil

A. Bisherige Untersuchungen über das Vorkommen von Flavonen und cyclischen organischen Säuren in der Familie der Solanaceen

Bis jetzt beschränkten sich die Untersuchungen über flavonische Inhaltsstoffe in der Familie auf die Gattungen *Nicotiana* und *Solanum*. Aus frischen Blättern und Blüten, seltener aus Früchten wurden hauptsächlich Rutin und Kämpferol-3-rhamnoglukosid, in einem Falle auch Isoquerzitrin, isoliert (siehe Tabelle 1). Die Isolierung von Rutin gelang nicht aus dachgetrocknetem Handelstabak und aus maschinenfermentiertem Tabak, da in diesem Fall das Flavon enzymatisch in dunkelbraune Farbstoffe umgewandelt war.

T a b e l l e 1

Zusammenstellung der Solanaceen-Arten, in denen bereits Flavonglykoside nachgewiesen wurden.

Artname	Pflanzen- teil	Flavongly- kosid	Autoren
<i>Solanum lycopersicum</i> L. "Golden Queen"	Frucht- schale	ein unbe- kanntes Glykosid	EULER, H.v. KARRER, P. KRAUSS, E.v. u. WALKER, O. 5)
<i>Solanum</i> <i>pimpinellifolium</i> L.	Blätter	Rutin	FONTAINE, Th.D. MA, R. u. 6) POOL, J.B. 6)
<i>Solanum</i> <i>tuberosum</i> L.	Blüten	Rutin	TATSUTA, H. 7)

- 5) EULER, H.v. Helvet. Chim. Acta 14, 154 (1931).
KARRER, P.
KRAUSS, E.v. u.
WALKER, O.,
- 6) FONTAINE, Th.D. Arch. Biochem. 15, 89 (1947).
MA, R. u.
POOL, I.B.,
- 7) TATSUTA, H., ref.: C. A. 47, 1903 (1953).

Fortsetzung Tabelle 1

Artname	Pflanzen- teil	Flavon- glykosid	Autoren
Solanum angustifolium Lamarck	Blätter Zweige Blüten	Rutin	WEHMER, C. ⁸⁾
Solanum tuberosum L.	Blätter	Rutin	KLEIN, G. ⁹⁾
Solanum demissum L.	Blätter	Rutin	GRIFFITH, J. Q. KREWSON, C. F. u. NAGHSKI, J. ¹⁰⁾
Nicotiana glauca Graham	Blätter	Rutin	GRIFFITH, J. Q. KREWSON, C. F. u. NAGHSKI, J. ¹⁰⁾
Nicotiana rustica L.	Blätter	Rutin	GRIFFITH, J. Q. KREWSON, C. F. u. NAGHSKI, J. ¹⁰⁾
Nicotiana tabacum L.	Blätter	Rutin	GRIFFITH, J. Q. KREWSON, C. F. u. NAGHSKI, J. ¹⁰⁾ TURNER, A. ¹¹⁾ KIERMEIER, F. u. RICKERL, E. ¹²⁾ NEUBERG, C. u. KOBEL, M. ^{13) 14)}

- 8) WEHMER, C. Die Pflanzenstoffe, II, 1091, Jena 1931.
- 9) KLEIN, G. Handbuch der Pflanzenanalyse, II. 936, Wien 1932.
- 10) GRIFFITH, J. Q.
KREWSON, C. F. u.
NAGHSKI, J., Rutin and Related Flavonoids, 8, Easton/Pa., 1955.
- 11) TURNER, A. Ann. Chem. 24, 1444 (1952).
- 12) KIERMEIER, F. u.
RICKERL, E., Z. f. Lebensmitteluntersuchung 100, 441 (1955).
- 13) NEUBERG, C. u.
KOBEL, M., Naturwissenschaften 23, 800 (1935)
- 14) NEUBERG, C. u.
KOBEL, M., Enzymologia 1, 177 (1936).

Fortsetzung Tabelle 1

Artnamen	Pflanzen- teil	Flavon- glykosid	Autoren
<i>Nicotiana tabacum</i> L.	Blätter	drei unbe- kannte Glykoside	NAFF, A.S. u. WENDER, S.H. ¹⁵⁾
<i>Nicotiana tabacum</i> L. (Kentucky-Tabak)	Blätter	Isoquer- zitrin	HOWARD, L. GAGE, T.B. u. ¹⁶⁾ WENDER, S.H.
<i>Nicotiana tabacum</i> L.	Blätter	Rutin Isoquer- zitrin	MIKHAILOW, M.K. ¹⁷⁾
<i>Nicotiana silvestris</i> Spegazzini et Comes	Blätter	Kämpferol- 3-rhamno- glukosid	WADA, E. ¹⁸⁾
<i>Nicotiana rustica</i> L.	Blätter	Kämpferol- 3-rhamno- glukosid	BADGETT, C.O. ¹⁹⁾
<i>Nicotiana glauca</i> Graham	Blätter	Kämpferol- 3-rhamno- glukosid	BADGETT, C.O. ¹⁹⁾
<i>Nicotiana alata</i> Link et Otto	Blätter	Kämpferol- 3-rhamno- glukosid	DUSSY, J. ²⁰⁾
<i>Nicotiana silvestris</i> Spegazzini et Comes	Blüten	Kämpferol- 3-rhamno- glukosid	ROLLER, K. ²¹⁾
<i>Nicotiana tabacum</i> L.	Blüten	Kämpferol- 3-rhamno- glukosid	ROLLER, K. ²¹⁾

- 15) NAFF, A.S. u.
WENDER, S.H.,
Proc. Oklahoma Acad. Sci.
12, 10 (1947).
- 16) HOWARD, L.
GAGE, T.B. u.
WENDER, S.H.,
Arch. Biochem. Biophys.
25, 74 (1950).
- 17) MIKHAILOW, M.K.,
ref. C.A. 22, 17342 (1956).
- 18) WADA, E.,
J. Agr. Chem. Soc. Japan
26, 159 (1952).
- 19) BADGETT, C.O.,
Arch. Biochem. Biophys.
24, 245 (1950).
- 20) DUSSY, J.
ref. C. A. 42, 3142 (1948).
- 21) ROLLER, K.,
Z. f. Bot. 44, 477 (1956).

Die bisherigen Untersuchungen über cyclische Pflanzensäuren in der Familie der Solanaceen beschränkten sich auf den Nachweis der Kaffee- und Chlorogensäure. Beide Säuren wurden in Kartoffeln¹²⁾²² und in frischen Tabakblättern²³⁾ festgestellt; die Kaffeesäure allein konnte in der Frucht von *Lycopersicum esculentum* Mill.²⁴⁾, sowie in *Physalis Alkekengi* L.²⁵⁾ und in den Knollen von *Solanum tuberosum* L. papierchromatographisch nachgewiesen werden. Die Isolierung der gleichen Säure gelang aus dem Kraut von *Solanum angustifolium*²⁶⁾, während die Chlorogensäure in kristallisierter Form aus Tabakblättern²⁷⁾ isoliert wurde. Die umfassendsten Untersuchungen über die Verbreitung der Chlorogensäure innerhalb der Solanaceen stellten K. GORTER und J. POLITIS an. K. GORTER²⁸⁾ fand sie in sechs Solanaceen-Arten, J. POLITIS²⁹⁾³⁰⁾ sogar in 37 Pflanzen der Familie. Insgesamt wurden etwa 50 Solanaceen-Arten bereits untersucht. Von diesen nahmen wir 14 Arten in unsere eigenen Untersuchungen auf.

-
- | | |
|---|---|
| 22) JOHNSON, G. u.
SCHAAL, I. A., | Science (Washington) <u>115</u> , 627
(1952). |
| 23) SHIROYA, M.
SHIROYA, T. u.
HATTORI, S., | Physiologia Plantarum <u>8</u> , 594
(1955). |
| 24) HERRMANN, K., | Naturwissenschaften <u>43</u> , 109
(1956). |
| 25) CHARAUX, Ch., | J. Pharmac. Chim. <u>2</u> , 292 (1910). |
| 26) TUTIN, F. u.
CLEWER, H. W. B., | J. Chem. Soc. (London) <u>105</u> , 563
(1914). |
| 27) KOENIG, P. u.
DÖRR, W., | Biochem. Z. <u>263</u> , 295 (1933). |
| 28) GORTER, K., | Arch. Pharmaz. <u>247</u> , 184 (1909). |
| 29) POLITIS, J., | Rev. cytol. Cytophysiol. végétales
<u>10</u> , 229 (1948). |
| 30) POLITIS, J., | ref. C. A. <u>42</u> , 4648 (1948). |

B. Eigene Untersuchungen

1) Methodik der systematischen Untersuchungen

Die vorliegenden systematischen Untersuchungen führten wir mit Hilfe der papierchromatographischen Methode durch.

Zur Untersuchung der Pflanzeninhaltsstoffe wurden die getrockneten Pflanzenteile zerkleinert und mit Methanol extrahiert. Um eine Trennung in hydrophile und hydrophobe Stoffe zu erreichen, schüttelten wir den Gesamtextrakt mit Äthylazetat aus und verwendeten den wässrigen Gesamtextrakt, die Äthylazetatausschüttelung und die wässrige Phase des Gesamtauszuges zu papierchromatographischen Untersuchungen. Wir chromatographierten nach der absteigenden, eindimensionalen Methode auf Papier Nr. 2043 der Firma Schleicher und Schüll. Für die Glykosiduntersuchungen verwendeten wir das Lösungsmittelsystem Äthylazetat-Ameisensäure-Wasser (10+2+3). Zum papierchromatographischen Nachweis der Aglykone, nach Hydrolyse des wässrigen Gesamtauszuges, erwiesen sich die Lösungsmittelgemische Isopropanol-Ameisensäure-Wasser (2+5+5) und Eisessig-Wasser (6+4) als geeignet. Die chromatographische Technik (Punktgröße, Abstand der Punkte voneinander, Entfernung vom Papierrand, Laufrichtung usw.) die sich bereits bei der Chromatographie der Glykoside bewährt hatte, wurde auch hier mit Erfolg angewandt. Die Laufzeit der Chromatogramme betrug im I-A-W^{*)}-Gemisch sechs bis sieben und im E-W^{**})-Gemisch 23 bis 25 Stunden.

Zunächst ermittelten wir an Hand eines Übersichtschromatogramms die günstigste Konzentration der aufzutragenden Lösung und stellten damit auch gleichzeitig die Verteilung der Flavone auf dem Chromatogramm fest. Dann erst wurden die Auszüge zusammen mit den in Frage kommenden Testsubstanzen, soweit diese vorhanden waren, chromatographiert und sogenannte Leitchromatogramme hergestellt.

*) I-A-W = Isopropanol-Ameisensäure-Wasser.

* *) E-W = Eisessig-Wasser.

Beim Anfertigen von Leitchromatogrammen betrug der Abstand von Punkt zu Punkt 3 cm; die Startlinie war 6 cm vom unteren Rand des Chromatogrammbogens entfernt.

Um bei hydrophilen Glykosiden mit niedrigen R_F -Werten eine größere Laufhöhe und damit eine bessere Trennung zu erreichen, fertigten wir Durchlaufchromatogramme an. Da hier die Lösungsmittelfront nicht mehr festgestellt werden konnte, ermittelten wir vorher den R_F -Wert der mitgelaufenen Vergleichssubstanzen im entsprechenden Lösungsmittel³¹⁾.

Zur Durchführung papierchromatographischer Identitätsprüfungen verwendeten wir zusätzlich Streifenchromatogramme. Die flavonhaltige Lösung wurde strichförmig aufgetragen. Nach Trennung der Substanzen in einem entsprechenden Lösungsmittelsystem, eluierten wir die bandförmigen, glykosidhaltigen Zonen mit Methanol und filtrierten die Lösung, um sie zur späteren Hydrolyse zu verwenden.

Den R_F -Wert errechneten wir nach der von F. CRAMER³¹⁾ angegebenen Formel.

2) Papierchromatographische Untersuchungen der Glykoside

Als Ergebnis dieser papierchromatographischen Arbeiten konnten wir bei den einzelnen Vertretern der Familie insgesamt maximal acht Flavonglykoside feststellen. In der Reihenfolge ihres hydrophoben Charakters bezeichneten wir sie mit den Buchstaben A, B, C, D, E, F, G und H.

Die nähere Charakterisierung der Glykoside auf Grund mitgelaufener Testsubstanzen und mit Hilfe verschiedener Sprühreagenzien ergab folgendes:

Glykosid A hat einen R_F -Wert von 0,52 im Gemisch Ä-A-W^{*)}, der nur etwas unter dem des Isoquerzitrins liegt. Durch Be-

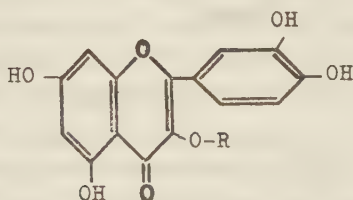
31) CRAMER, F.,

Papierchromatographie, S. 122,
Weinheim/Bergstr., 1953.

*) Ä-A-W = Äthylazetat-Ameisensäure-Wasser.

sprühen mit basischem Bleiazetat erhielten wir eine orange Farbtönung. Die spätere Hydrolyse ergab, daß es sich um ein Quercetingalaktosid handelte. Glykosid A dürfte somit mit Hyperosid identisch sein (siehe Tabelle 6, S 37).

F o r m e l 1



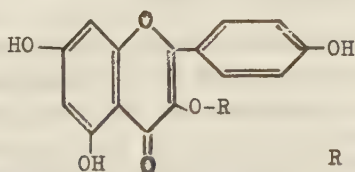
R = Galaktose

Glykosid A

Hyperosid

Glykosid B (R_f -Wert in Ä-A-W^{*)} = 0,44) wurde durch Besprühen mit basischem Bleiazetat und auf Grund des identifizierten Aglykons nach der Hydrolyse als Kämpferolglykosid erkannt. Es hatte den gleichen R_f -Wert wie das als Testsubstanz verwendete Kämpferol-3-rhamnoglykosid (siehe Tabelle 7, S. 38).

F o r m e l 2



R = Rhamnose + Glukose

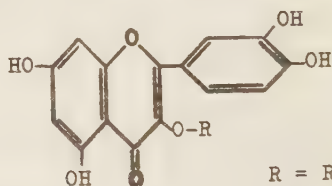
Glykosid B

Kämpferol-3-rhamnoglukosid

*) Ä-A-W = Äthylazetat-Ameisensäure-Wasser.

Glykosid C verhielt sich verschiedenen Sprühreagenzien gegenüber wie authentisches Rutin (siehe Tabelle 5, S. 33).

F o r m e l 3



R = Rhamnose + Glukose

Glykosid C
Rutin

Die restlichen Flavonglykoside D, E, F, G und H hatten R_f -Werte, die unterhalb dem des Rutins lagen; sie waren also hydrophiler Natur. Da zur papierchromatographischen Identifizierung dieser Glykoside keine authentischen Testsubstanzen zur Verfügung standen, mußten wir uns damit begnügen, sie mit Hilfe von Sprühreagenzien, bzw. nach der Hydrolyse durch Identifizieren der Aglykone näher zu charakterisieren. Es zeigte sich, daß in der Hauptsache Quercetin- oder Kämpferol-Glykoside, in einigen wenigen Fällen auch Luteolin- bzw. Apigenin-Derivate vorlagen. Durch Bestimmung der Zuckerkomponenten fanden wir, daß es sich bei den wasserlöslichen Glykosiden um Glukoside bzw. Galaktoside handelte.

Mit Hilfe des Zirkon-Zitronensäure-Testes konnte eine Differenzierung in Flavone und Flavonole erreicht werden. Um einen Überblick zu bekommen, verwendeten wir für diese Untersuchungen von jeder Gattung zwei Pflanzen. Es zeigte sich, daß der weitaus größte Teil der wasserlöslichen Flavonkörper innerhalb der gesamten Familie der Solanaceen Flavonolcharakter besitzt.

3) Charakterisierung einiger Glykoside

Eine nähere Charakterisierung der Glykoside A, B und C nahmen wir in solchen Fällen vor, in denen die R_f -Werte dieser Flavone mit den R_f -Werten authentischer Testsubstanzen nicht übereinstimmten. Die Identifizierung dieser Glykoside erfolgte durch chromatographische Bestimmung der Zuckerkomponenten im Lösungsmittelsystem Pyridin-Äthylazetat-Wasser (1+2+2). Für die Untersuchungen wurden Pflanzenextrakte verwendet, die die entsprechenden Glykoside in größerer Menge enthielten.

Die gereinigten Gesamtauszüge trugen wir auf gewaschene Chromatogrammbögen in Streifenchromatogrammen auf und trennten die auf diese Weise angereicherten Substanzen in Äthylazetat-Ameisensäure-Wasser. Die entsprechenden Glykosid-Zonen eluierten wir mit Methanol und kamen so zu reinen Flavonoidlösungen.

So erhielten wir aus den Blättern von *Solanum citrullifolium* und *Nierembergia frutescens* Glykosid A und führten damit die Hydrolyse durch. Das Aglykon hatte den gleichen R_f -Wert und wies nach Besprühen mit basischem Bleiazetat die gleiche Färbtönung auf wie authentisches Quercetin. Als Zucker wurde Galaktose nachgewiesen. Aus den Blättern von *Solanum capsicastrum* und *Nicotiana forgetiana* reicherten wir Glykosid B (Kämpferol-3-rhamnoglukosid) an. Die isolierte Reinsubstanz hatte gleiche Laufhöhe wie die Testsubstanz. Nach der Hydrolyse ergab sich Kämpferol. Als Zuckerkomponente wurden Rhamnose und Glukose festgestellt. Glykosid C (Rutin aus den Blättern von *Nicotiana glauca*) charakterisierten wir auf die gleiche Art und Weise durch Hydrolyse der reinen Glykosidlösung. Das Aglykon war identisch mit Quercetin.

Die einzelnen Ergebnisse der Glykosiduntersuchungen sind in Tabellen zusammengestellt, auf die jeweils verwiesen wird.

4) Diskussion der Glykosiduntersuchungen

Es wurden 90 Solanaceen-Arten, bzw. Pflanzenteile auf das Vorkommen von Flavonglykosiden untersucht. Dabei lieferte die Auswertung der Chromatogramme folgende Ergebnisse:

1. Alle Blätter und Blüten der von uns untersuchten Solanaceen-Arten enthielten Flavonglykoside, einschließlich der im DAB 6 aufgeführten Drogen (Fol. Belladonnae, Fol. Stramonii und Fol. Hyoscyami).
2. In den meisten Fällen dürfte es sich um Mono- und Disaccharide handeln. Als charakterisierbare Glykoside konnten Hyperosid, Kämpferol-3-rhamnoglukosid und Rutin festgestellt werden. Bei den übrigen Flavonverbindungen handelte es sich um Diglykoside.
3. Die Anzahl der Glykoside in den einzelnen Arten ist verschieden. In manchen Arten konnten nur zwei Flavonverbindungen festgestellt werden, in anderen Arten dagegen bis zu acht.
4. Sowohl die Blätter als auch die Früchte von *Solanum triflorum* und *Nicandra physaloides* führten eine verschiedene Anzahl von Glykosiden, während die übrigen untersuchten Solanaceen-Früchte flavonfrei waren (*Solanum lycopersicum*, *Capsicum annuum*, *Physalis edulis* und *Physalis philadelphica*).
5. Die Flavonführung in den Blättern und Blüten derselben Pflanzen war nur in einem Falle (*Nicotiana rustica*) völlig gleich.
6. Die Blüten von *Nicotiana Sandera* rot und *Nicotiana Sandera* weiß zeigten die gleiche Flavongarnitur. Genauso verhält es sich mit den Blättern dieser beiden Arten.
7. Bei allen anderen Solanaceen-Arten, bei denen außer den Blättern noch die Blüten zu papierchromatographischen Untersuchungen zur Verfügung standen, ergaben sich weitgehende Unterschiede im Flavonbild.

8. Ein papierchromatographischer Vergleich zwischen *Atropa belladonna* K und *Atropa belladonna* M^{*}) einerseits und zwischen *Hyoscyamus niger* M und *Hyoscyamus niger* Handelsware andererseits, zeigte, daß die Flavonführung hier völlig verschieden war. Auf Grund dieser Beobachtung, die auch schon bei der Untersuchung von Polygonaceen-Arten gemacht wurde³²⁾, ergibt sich, daß gleiche Pflanzen, die aus Samen verschiedener Herkunft gezüchtet und an verschiedenen Standorten angepflanzt wurden, nicht immer gleiche Flavongarnituren aufweisen müssen.
9. Für die einzelnen von uns untersuchten Arten waren keine bestimmten Glykosidkombinationen, wie dies beispielsweise bei den Polygonaceen³³⁾ und Betulaceen³⁴⁾ der Fall ist, feststellbar. Auf Grund der in den einzelnen Arten gefundenen Flavone ist zunächst noch keine systematische Gliederung möglich.
10. Freie Aglykone traten in keiner Pflanzenart auf.

11) Papierchromatographische Untersuchungen der Aglykone nach Hydrolyse der wässerigen Pflanzenauszüge

Für die Untersuchung der Aglykone wurden die gereinigten Gesamtauszüge einer ein- bzw. dreistündigen Hydrolyse mit 10%iger Schwefelsäure unterworfen, die Aglykone durch Ausschütteln mit Äther abgetrennt und chromatographiert.

- | | |
|------------------------------------|--|
| 2) BERBERICH, L., | Dissertation, München 1954. |
| 3) HÖRHAMMER, L. u.
HÄNSEL, R., | Arch. Pharmaz., Ber. dtsoh.
pharmaz. Ges. <u>287/59</u> , 189 (1954). |
| 4) HÖRHAMMER, L. u.
HÄNSEL, R., | Arch. Pharmaz., Ber. dtsoh.
pharmaz. Ges. <u>287/59</u> , 117 (1954). |

*) K = Karlsruhe; M = München.

Als Testsubstanzen verwendeten wir Lösungen von authentischem Quercetin, Kämpferol, Luteolin, Apigenin, Rhamnetin, Rhamnazin, Fisetin, Morin und Scutellarein. Als Sprühreagenzien dienten eine wässrige Lösung von Aluminiumsulfat, daneben Liquor Plumbei sucaceticus DAB 6 und Barytwasser DAB 6.

Bei der papierchromatographischen Untersuchung von 83 Solanaceen-Arten, bzw. Pflanzenteilen wurden nach der Hydrolyse der gereinigten Gesamtauszüge insgesamt 5 Aglykone festgestellt. Wir haben sie mit den Buchstaben A, B, C, D und E bezeichnet (siehe Tabelle 2). Die fünf Substanzen haben in den genannten Lösungsmittelsystemen folgende R_F -Werte:

T a b e l l e 2

Lösungsmittel	R_F -Werte für Substanz				
	A	B	C	D	E
I-A-W ^{*)}	0,22	0,34	0,36	0,40	0,52
E-W ^{**)}	0,30	0,42	0,45	0,50	0,64

Die Ergebnisse der systematischen Untersuchungen sind in Tabelle 8, Seite 39, zusammengestellt.

Aglykon A zeigte in den beiden Lösungsmittelgemischen den gleichen R_F -Wert wie authentisches Quercetin (siehe Formel 4, S. 15).

Aglykon B konnte nach Bestimmung des R_F -Wertes und nach Besprühen mit basischem Bleiazetat Rhamnetin zugeordnet werden (siehe Formel 5, S. 15).

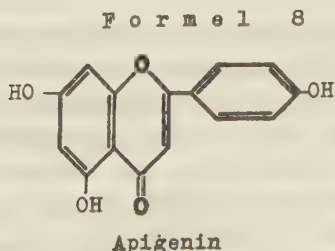
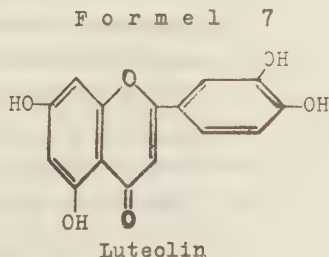
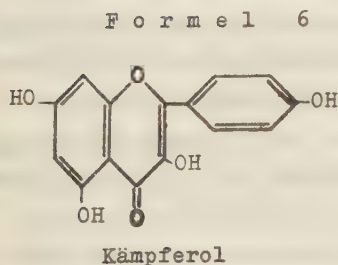
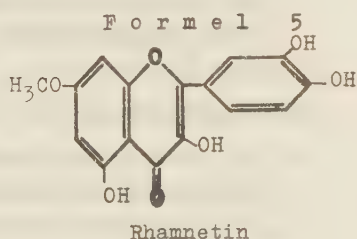
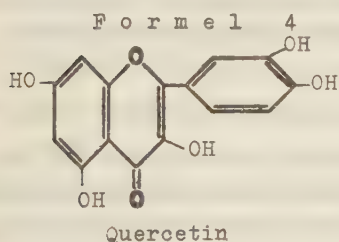
Aglykon C war auf Grund seines R_F -Wertes und nach Farbreaktion mit basischem Bleiazetat mit authentischem Kämpferol identisch (siehe Formel 6, S. 15).

*) I-A-W- = Isopropanol-Ameisensäure-Wasser.

**) E-W- = Eisessig-Wasser.

Aglykon D, das seiner Farbe nach im unentwickelten Zustand zur Gruppe der Flavone gehört, war identisch mit authentischem Luteolin. Das in der Nähe gelegene Rhamnazin unterscheidet sich von Luteolin durch eine andere Farbe des Bleikomplexes (vgl. S. 54) (siehe Formel 7).

Aglykon E zeigte die gleichen Farbreaktionen wie Apigenin und hatte in den verwendeten Lösungsmittelgemischen den gleichen R_F -Wert wie die Testsubstanz (siehe Formel 8).



6) Diskussion der Aglykonuntersuchungen

Insgesamt wurden Pflanzenteile von 90 Solanaceen-Arten auf das Vorhandensein von Aglykonen untersucht. Zur Verfügung standen von 72 Arten die Blätter, von 11 Arten die Blüten, von 6 Arten die Früchte und von einer Art die Samen. Ein Überblick über die Verbreitung dieser Flavonaglykone läßt folgendes erkennen:

1. Die Konstitution der festgestellten Aglykone innerhalb der Familie und in den einzelnen Arten ist nicht auf einen Typ beschränkt. Es kommen sowohl Flavonole als auch Flavone vor.
2. Die Gesamtzahl der gefundenen Aglykone beträgt fünf.
3. Als einzeln vorkommendes Aglykon beobachteten wir in erster Linie Quercetin (bei sechs Arten) und in zwei Fällen auch Kämpferol. Bei den übrigen untersuchten Pflanzenarten waren folgende Kombinationen festzustellen:
4. Gattung *Nicotiana*:
 - a) Innerhalb der Gattung *Nicotiana* war die Kombination Quercetin-Kämpferol am häufigsten, bis zu 60% unter allen festgestellten Aglykonen, anzutreffen.
 - b) Quercetin war allein in vier verschiedenen Pflanzenteilen und mit Apigenin zusammen nur in einer Pflanze (*Nicotiana glauca*, Blätter) aufzufinden.
 - c) Die Kombination Quercetin-Kämpferol-Apigenin wurde in neun Fällen nachgewiesen.
 - d) Bei der Gegenüberstellung der Flavoninhaltsstoffe von Blüten und Blättern war nur in fünf Fällen ein gleiches Flavonbild auf dem Chromatogramm zu erkennen. In vier anderen Fällen war in Anzahl und Kombination keine Übereinstimmung festzustellen. Die Blätter von *Nicotiana paniculata*, *Nicotiana multivalvis* und *Nicotiana Langsdorffii* führen je ein Aglykon mehr als die entsprechenden Blüten. Bei *Nicotiana alata* ist dieses Verhältnis umgekehrt.

- e) Die Aglykongarnitur Quercetin-Kämpferol trat in den Nicotianablüten bevorzugt auf.
- f) Die Kombination Kämpferol-Apigenin war nie allein anzutreffen; es fand sich daneben stets Quercetin.
- g) Luteolin war in keiner Nicotiana-Art nachzuweisen.

5. Gattung Solanum:

- a) In den 23 untersuchten Pflanzenteilen der Gattung Solanum war die Aglykonkombination Quercetin-Kämpferol am häufigsten vertreten (etwa 78%).
- b) Quercetin allein fand sich in den Blättern von nur zwei Arten.
- c) Luteolin war mit Quercetin und Kämpferol zusammen nur in den Früchten von Solanum triflorum zu sehen, im Gegensatz zu den Blättern der gleichen Pflanze, die nur Quercetin und Kämpferol enthielten.
- d) Solanum gracile führte als einzige der von uns untersuchten Solanaceen-Arten neben Quercetin noch Rhamnetin.
- e) Apigenin ließ sich in keiner Solanum-Art nachweisen.

6. a) Die übrigen 33 von uns auf Aglykone untersuchten Pflanzenteile zeichneten sich ebenso wie die Nicotiana- und Solanum-Arten durch die Quercetin-Kämpferol-Garnitur aus (ca. 51%).

- b) Blätter und Früchte der gleichen Art führten die gleiche Kombination. Blätter und Blüten dagegen zeigten kein gleiches Flavonbild; und zwar enthielten die Blätter Quercetin, Kämpferol und Apigenin, die Blüten der gleichen Pflanzen dagegen die gleiche Kombination ohne Apigenin.

7. Von allen 90 untersuchten Pflanzenarten enthielt nur eine Art die Flavongruppierung Quercetin-Luteolin-Apigenin und nur zwei Pflanzen die Kombination Luteolin-Apigenin (Capsi-

cum langer gelber Cayenne und Capsicum mexicanum). Eine dritte Capsicum-Art (Capsicum annuum) enthielt Quercetin-Kämpferol-Luteolin.

8. Innerhalb der gesamten Familie trat die Quercetin-Kämpferol-Garnitur stark bevorzugt auf, doch schließt die Bildung dieser Flavonole die Synthese von Substanzen der Flavonreihe nicht aus.

7) Papierchromatographische Untersuchungen der Pflanzenextrakte auf cyclische Pflanzensäuren

a) Methodik

Die vergleichenden Untersuchungen einer größeren Anzahl von Pflanzenextrakten auf cyclische Pflanzensäuren war ebenfalls nur durch Anwendung der papierchromatographischen Technik möglich. Verwendet wurden der Gesamtauszug A und die Äthylazetat-ausschüttelung B. Die papierchromatographischen Untersuchungen wurden wiederum auf Schleicher-Schüll-Papier Nr. 2043 durchgeführt. Da wir die Identität der untersuchten Pflanzensäuren durch Mitlaufenlassen von Reinsubstanzen erbrachten, mußten vor Beginn der eigentlichen Untersuchungen die R_F -Werte der in Frage kommenden Testsäuren ermittelt und das Verhalten dieser Verbindungen auf dem Papierchromatogramm im UV-Licht, bzw. beim Besprühen mit verschiedenen Reagenzien festgestellt werden (siehe Tabelle 3, S. 19).

Zur Identifizierung der Kaffee-, Chlorogen- und p-Cumarsäure wurden folgende qualitative Reaktionen durchgeführt:

- 1) Besprühen mit einer Äthanolischen 2%igen Eisen-III-chlorid-Lösung³⁵⁾.

35) HÖRHAMMER, L. u.
SCHERM, A.,

Arch. Pharmaz., Ber. dtsch. pharmaz.
Ges. 288/60, 441 (1955).

- 2) Reduktion der Säuren mit 10%iger ammoniakalischer Silbernitratlösung³⁵⁾.
- 3) Behandeln der Säureflecke mit konzentriertem Ammoniak³⁶⁾.
- 4) Besprühen mit einer 5%igen wässrigen Aluminiumsulfatlösung.
- 5) Besprühen mit basischer Bleiazetatlösung³⁷⁾.
- 6) Behandeln der Säureflecke mit Bromphenolblaulösung.

In der folgenden Tabelle sind die typischen UV-Fluoreszenzen und Farbreaktionen der Kaffee-, Chlorogen- und p-Cumarsäure wiedergegeben.

T a b e l l e 3

	Kaffeesäure	Chlorogensäure	p-Cumarsäure
UV-Licht unbehandelt	hellblau	hellblau	dunkelblau
Eisen-III- chlorid- lösung	grünlich	grünlich	rötlich
Ammoniak. AgNO ₃ - lsg.	graubraun	graubraun	hellbraun
Ammoniak	im UV-Licht hellblau	im UV-Licht gelbgrün	im UV-Licht tiefblau
Aluminium- sulfatlsg.	im UV-Licht blau	im UV-Licht blau	keine Reaktion
Basische Bleiazetat- lösung	im UV-Licht mattgrün bis gelbgrün	im UV-Licht mattgrün bis gelbgrün	im UV-Licht violett
Bromphenol- blaulösung	im UV-Licht hellblau	im UV-Licht fahlblau	im UV-Licht violett

35) HÖRHAMMER, L. u.
SCHERM, A.

Arch. Pharmaz., Ber. dtsh.
pharmaz. Ges. 288/60, 441 (1955).

36) HERRMANN, K.,

Pharmazie 11, 433 (1951).

37) FIEDLER, U.,

Arzneimittelforsch. 4, 41 (1954)

Wir arbeiteten in vier Lösungsmittelsystemen:

- 1) Äthylazetat-Ameisensäure-Wasser = 10 + 2 + 3
- 2) n-Butanol-Eisessig-Wasser = 4 + 1 + 5
- 3) n-Butanol-Ameisensäure-Wasser³⁸⁾ = 4 + 1 + 5
- 4) 15%ige Essigsäure³⁸⁾.

Bei Auswertung der Chromatogramme zeigte sich, daß die beste Trennung der Kaffee-, Chlorogen- und p-Cumarsäure in den Lösungsmittelsystemen Ä-A-W^{*)} und 15%ige Essigsäure erreicht wurde, während bei den anderen beiden Lösungsmittelgemischen die R_F -Werte der zu untersuchenden Säuren schwer zu ermitteln waren, da die Säureflecke auf dem Chromatogramm keine scharfe Begrenzung zeigten.

Die untersuchten Säuren haben in den genannten Lösungsmittelsystemen folgende R_F -Werte:

T a b e l l e 4

Untersuchte Säuren	R_F -Werte im Lösungsmittel ^{*)}			
	n-B-E-W	n-B-A-W	Ä-A-W	15%ige Essigsäure
p-Cumarsäure	0,82	0,91	0,94	0,78
Kaffeensäure	0,78	0,80	0,83	0,72
Chlorogensäure	0,62	0,71	0,57	0,60

Die Ergebnisse der Säurenuntersuchungen sind in Tabelle 8, Seite 39. zusammengestellt.

38) HERRMANN, K.,

Pharmazie 11, 433 (1956).

*) Ä-A-W = Äthylazetat-Ameisensäure-Wasser, 10+2+3.
n-B-E-W = n-Butanol-Eisessig-Wasser, 4+1+5.
n-B-A-W = n-Butanol-Ameisensäure-Wasser, 4+1+5.

b) Diskussion

Es wurden insgesamt 90 Solanaceen-Arten auf das Vorkommen cyclischer Pflanzensäuren untersucht. Zur Verfügung standen von 72 Arten die Blätter, von 11 Arten die Blüten, von 6 Arten die Früchte und von einer Art die Samen. Ein Überblick über die Verbreitung der Kaffee-, Chlorogen- und p-Cumarsäure ließ folgendes erkennen:

1. Die Kaffeessäure war von den drei untersuchten Säuren am häufigsten vertreten.

Die Chlorogensäure trat fast immer mit der Kaffeessäure zusammen auf.

Die p-Cumarsäure war in keiner der untersuchten Pflanzenarten festzustellen.

Im einzelnen konnten wir folgende Besonderheiten beobachten:

- A) In elf Pflanzenarten war nur Kaffeessäure, in neun nur Chlorogensäure nachzuweisen.
- B) Die Blätter von zwei Datura-, fünf Solanum- und zwei Capsicum-Arten führten weder Kaffee- noch Chlorogensäure.
- C) Die Kombination Kaffee-Chlorogensäure konnte sowohl in den Blättern als auch in den Blüten von acht Arten gefunden werden. Bei den Blättern und Blüten von drei Nicotiana-Arten (*N. paniculata* L., *N. alata* Link et Otto, *N. Langsdorffii* Weinmann) zeigten die Säuregarnituren keine Übereinstimmung.
- D) Die Blätter von *Atropa belladonna* L. (B.G.M.)*) enthielten beide Säuren, während in den Blättern von *Atropa belladonna* L. (B.G.K.)**) Kaffeessäure allein auftrat. In *Hyoscyamus niger* L. und *Hyoscyamus niger*, Handelsware, waren beide Säuren enthalten.

*) B.G.M. = Botanischer Garten München

**) B.G.K. = Botanischer Garten Karlsruhe

E) Die Blätter und Früchte von *Nicandra physaloides* (L.) Gaertn. und *Physalis philadelphica* Lam. führten Kaffee- und Chlorogensäure, während die Säurenkombinationen der Blätter und Früchte von *Capsicum annuum* L., *Physalis edulis* L., *Solanum lycopersicum* L. und *Solanum triflorum* Nutt. nicht identisch waren. Die Blätter von *Capsicum annuum* L. enthielten Kaffee- und Chlorogensäure, die Früchte dagegen keine der beiden Säuren. In den Samen könnte nur Chlorogensäure nachgewiesen werden.

8) Papierchromatographischer Vergleich des Flavon- und Säuregehaltes diploider und tetraploider Solanaceen-Arten

Während E. STEINEGGER^{39)40)41/42)} die Abhängigkeit des Alkaloidgehaltes von einer Polyploidisierung in Solanaceen-Arten schon eingehend untersuchte, liegen auf dem Gebiet der Flavone noch keine diesbezüglichen Arbeiten vor. Es lag daher im Rahmen unserer Arbeitsrichtung zu untersuchen, ob sich eine Polyploidisierung auf den Flavon-, bzw. Säuregehalt, auswirkt, da bereits T. W. IWANOW⁴³⁾ bei *Panicum miliaceum* (Gramineen), gefunden hatte, daß in der polyploiden Form dieser Pflanze der Rutingehalt größer ist als in der diploiden Form. Unsere Vergleichsuntersuchungen wurden mit Hilfe der papierchromatographischen Methode an den diploiden und tetraploiden Formen folgender Pflanzen durchgeführt^{*)}:

- | | |
|---------------------|--|
| 39) STEINEGGER, E., | Pharmac. Acta Helvetiae <u>26</u> , 188 (1951) |
| 40) STEINEGGER, E., | Pharmac. Acta Helvetiae <u>27</u> , 251 (1952) |
| 41) STEINEGGER, E., | Pharmac. Acta Helvetiae <u>29</u> , 141 (1954) |
| 42) STEINEGGER, E., | Pharmac. Acta Helvetiae <u>29</u> , 378 (1954) |
| 43) IWANOW, F. W. | ref. Chem. Zbl. <u>33</u> , 9251 (1956). |

*) Herrn Professor Dr. E. Steinegger, Pharmacognost. Abteilung des pharm. Inst. der Universität Bern, und Herrn Professor K. Schmid von der Bundesanstalt für Tabakforschung in Forchheim/Baden danken wir für die freundliche Überlassung des Pflanzen- bzw. Samenmaterials.

1. *Datura stramonium* L.
2. *Nicotiana glauca* Hort. ex Watson
3. *Nicotiana glauca* L.
4. *Nicotiana glauca* Weinmann
5. *Nicotiana glauca* (Graham) Hooker.

Die schon früher durchgeführte papierchromatographische Untersuchung ergab, daß *Datura stramonium* L. fünf Quercetin- bzw. Kämpferol-Glykoside, darunter Rutin und Hyperosid und zusätzlich noch Kaffeensäure enthält. Quercetin- und Kämpferol-Glykoside fanden wir ebenfalls in *Nicotiana glauca* Hort. ex Watson, *Nicotiana glauca* L., *Nicotiana glauca* (Graham) Hooker und *Nicotiana glauca* Weinmann.

Der Gehalt an aromatischen Säuren bei *Nicotiana*-Arten ist gegenüber *Datura* qualitativ verschieden. *Nicotiana glauca* Hort. ex Watson, *Nicotiana glauca* L. und *Nicotiana glauca* (Graham) Hooker führen außer Kaffeensäure noch Chlorogensäure, während in *Nicotiana glauca* Weinmann nur Chlorogensäure nachgewiesen werden konnte.

Da wir bereits in früheren Untersuchungen festgestellt haben, daß der Flavongehalt in qualitativer Hinsicht oftmals vom Standort abhängt^{*)}, führten wir einen papierchromatographischen Vergleich zwischen unserem Blattmaterial und den von Professor Steinegger, bzw. von der Bundesanstalt für Tabakforschung in Forchheim, erhaltenen diploiden Arten durch. Als Ergebnis zeigte sich, daß die beiden diploiden Formen im Flavon- und Säuregehalt völlig gleich waren.

Methodik der Untersuchungen

Zur Durchführung unserer Vergleichsuntersuchungen verwendeten wir von *Datura stramonium* L. (Prof. Steinegger) lufttrockene Blätter. Die diploiden und tetraploiden *Nicotiana*-Arten zogen wir in Ermangelung frischen bzw. getrockneten

^{*)} siehe Seite 13

Pflanzenmaterials aus den entsprechenden Samen (Forchheim).

a) Kultivierung

Die Samen der *Nicotiana*-Arten wurden in Keimschalen bei Zimmertemperatur zur Keimung gebracht und anschließend in Blumentöpfe umgepflanzt.

Drei Monate nach der Keimung entnahmen wir erstmalig den Vergleichskulturen von *Nicotiana Sandera* und *Nicotiana glutinosa* Blattproben. Diese vier Proben (*Nicotiana Sandera* 2n und 4n), (*Nicotiana glutinosa* 2n und 4n) trockneten wir sofort bei 70° C im Trockenschrank und wogen auf der Analysenwaage genau gleiche Portionen ab. *Nicotiana Sandera* 2n und 4n ergab je 107 mg, *Nicotiana glutinosa* 2n und 4n nur je 48 mg Untersuchungsmaterial.

Eine zweite ergiebigere Ernte dieser beiden *Nicotiana*-Arten wurde fünf Wochen später vorgenommen. Die Vergleichskulturen hatten sich ohne Ausnahme sehr gut weiterentwickelt und zeigten hinsichtlich der vegetativen Entwicklung deutliche Unterschiede. Die diploiden Formen von *Nicotiana glutinosa* waren weitaus üppiger gediehen als die tetraploiden Pflanzen der gleichen Art, während bei *Nicotiana Sandera* die diploide Form gegenüber der tetraploiden im Wachstum weit zurückgeblieben war. Wiederum wurden vier Proben entnommen, getrocknet (*Nicotiana Sandera* ergab je 990 mg, *Nicotiana glutinosa* je 703 mg Untersuchungsmaterial) und entsprechend der ersten Ernte zu papierchromatographischen Untersuchungen vorbereitet.

Die ebenfalls sehr gut entwickelten Pflanzen von *Nicotiana Langsdorffii* und *Nicotiana acuminata* wurden auf die gleiche Weise extrahiert und für papierchromatographische Untersuchungen vorbereitet.

b) Extraktion und quantitative Papierchromatographie

Je 14 g Blattmaterial der beiden Formen von *Datura stramonium* L. wurden im Soxhlet mit Methanol erschöpfend extrahiert und zur papierchromatographischen Untersuchung vorbereitet. Mit einem Teil des Gesamtextraktes führten wir die hydrolytische Spaltung durch. Zum Aufarbeiten der *Nicotiana*-Arten mußten wir uns infolge der geringen Menge des Ausgangsmaterials damit begnügen, die einzelnen Proben im Reagensglas mit je 5 ml Methanol mehrere Tage lang auszuziehen. Zu unseren papierchromatographischen Untersuchungen verwendeten wir die Äthylazetatausschüttelungen der beiden Extrakte von *Datura stramonium* L., sowie die acht Mazerate der *Nicotiana*-Arten. Um im Chromatogramm möglichst gut sichtbare und scharf begrenzte Flecke zu erhalten, fertigten wir zunächst von jeder Pflanze ein Übersichtschromatogramm an, indem wir die Extrakte, bzw. Mazerate, in steigender Konzentration auftrugen. Die Farbtintensität der entwickelten Flavon- bzw. Säureflecke diente als Maß für die richtige Konzentration; diese lag für die *Datura*-Extrakte bei 0,01 ml und für die *Nicotiana*-Mazerate bei 0,02 ml. Diese Menge brachten wir auf den Leitchromatogrammen mit einer Mikropipette punktförmig zu Papier. Zwischen die Punkte der zu untersuchenden Extrakte wurden Testlösungen aufgetragen.

Wie bei unseren anderen papierchromatographischen Untersuchungen verwendeten wir Schleicher-Schüll-Papier Nr. 2043. Für die Glykosid-, bzw. Aglykon- oder Säureuntersuchungen arbeiteten wir in den entsprechenden Lösungsmitteln (siehe S. 50). Zum Besprühen der fertigen Chromatogramme verwendeten wir die angegebenen Sprühreagenzien (siehe S. 18, 52 u. 54).

c) Ergebnisse

1. Bei dem Vergleich der diploiden Form von *Datura stramonium* L. mit der tetraploiden Form war rein qualitativ insofern ein Unterschied feststellbar, als die

diploide Form fünf Flavonglykoside erkennen ließ, während die tetraploide Form sechs enthielt. Bei dem fehlenden Glykosid handelt es sich um ein Kämpferolglykosid mit einem R_f -Wert von 0,16 in Ä-A-W^{*)}. Quantitative Veränderungen der Flavongarnitur konnten nicht beobachtet werden. Die Kaffeensäure war bei beiden Formen in quantitativ gleicher Menge anzutreffen.

2. Bei Nicotiana glutinosa L. waren durch die Polyploidisierung weder qualitative noch quantitative Veränderungen der Flavon- und Säuregarnitur aufgetreten. Beide Formen enthielten Quercetin- und Kämpferolglykoside sowie Kaffee- und Chlorogensäure.
3. Auch die Untersuchung von Nicotiana Langsdorffii Weinmann 2n und 4n^{**)} ergab, daß der Flavon- und Säuregehalt bei beiden Formen quantitativ und qualitativ völlig gleich war.
4. Die tetraploide Pflanze von Nicotiana Sandera Hort. ex Watson differenzierte sich von der diploiden Form durch einen quantitativ geringeren Gehalt an Flavonglykosiden, während Nicotiana Sandera 2n^{**)} weniger Kaffee- und Chlorogensäure enthielt als die tetraploide Pflanze. Qualitative Unterschiede konnten nicht beobachtet werden.
5. Bei Nicotiana acuminata (Graham) Hooker war der Flavon- und Säuregehalt der beiden Formen qualitativ vollkommen gleich, quantitativ jedoch bei der 4n^{**)} Form gegenüber der 2n^{**)} Form vermindert.
6. Durch zwischenzeitliche Untersuchungen während der Vegetationsperiode der Nicotiana-Arten konnten wir feststellen, daß sich die Zwischenergebnisse von den Endergebnissen in keiner Weise unterscheiden.

*) Ä-A-W = Äthylazetat-Ameisensäure-Wasser, 10+2+3.

**) 2n = diploide Form;
4n = tetraploide Form.

zusammenfassend ergibt sich, daß bei *Datura stramonium* durch die Polyploidisierung nur eine qualitative, aber keine quantitative Änderung des Flavongehaltes festgestellt werden konnte. Der Säuregehalt wurde nicht verändert.

Bei den *Nicotiana*-Arten war in keinem Fall eine qualitative Veränderung der Flavon- und Säuregarnitur aufgetreten. In einem Falle (*Nicotiana acuminata*) zeigte die $4n^{*)}$ Form gegenüber der $2n^{*)}$ Form einen quantitativ geringeren Gehalt an Flavonglykosiden und Säuren, während sich bei einer anderen Pflanze (*Nicotiana Sandera*) die tetraploide Form von der diploiden ^{nur} durch einen quantitativ geringeren Gehalt an Flavonen unterschied. Der Säuregehalt der diploiden Form der gleichen Pflanze war ^{hier} geringer als bei der tetraploiden Form.

9) Zusammenfassung der Untersuchungsergebnisse und Diskussion der möglichen Zusammenhänge zwischen den in den Solanaceen vorkommenden Flavonen und den cyclischen organischen Säuren

Die von uns untersuchten Vertreter der Solanaceen führten mit Ausnahme einiger Früchte alle Flavone. Im Gegensatz zu den Flavoninhaltsstoffen anderer Pflanzenfamilien ist der weitaus größte Teil dieser Flavone ausgesprochen hydrophiler Natur. Wir konnten feststellen, daß es sich in der Hauptsache um Quercetin- und Kämpferolabkömmlinge handelt, während Apigenin- bzw. Luteolin-Derivate seltener vorkommen. In einem einzigen Falle konnte als Aglykon Rhamnetin nachgewiesen werden.

Die stichprobenartige Untersuchung auf Zucker nach Hydrolyse der Extrakte ergab, daß es sich bei den wasserlösli-

*) $2n$ = diploide Form
 $4n$ = tetraploide Form.

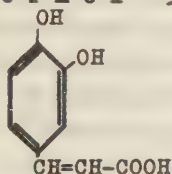
chen Glykosiden allgemein nur um Hexoside, bei den hydrophoben Glykosiden aber sowohl um Hexoside als auch um Pentoside handeln dürfte.

Hinsichtlich der Verteilung von Flavonen und Flavonolen in der Familie liegt kein einheitliches Bild vor. Es ist nicht möglich, einzelne Arten oder Gattungen der Familie auf Grund bestimmter Aglykongruppierungen, d.h. auf Grund des Fehlens oder der Anwesenheit gewisser Typen voneinander zu unterscheiden. Versucht man, die gesamte Familie auf Grund der vorkommenden Flavone gegen andere Familien abzugrenzen, so zeigt sich, daß dies nur sehr bedingt möglich ist, da beispielsweise die Umbelliferen⁴⁴⁾ ebenso wie die Solanaceen Flavone und Flavonole enthalten. Eine Unterscheidung gegenüber den Betulaceen und Polygonaceen wäre dagegen möglich, da es nach unseren früheren Untersuchungen⁴⁵⁾⁴⁶⁾ den Anschein hatte, als würden die Betulaceen und Polygonaceen nur Flavonole bilden; aber auch diese Unterscheidungsmöglichkeit, die auf der unterschiedlichen Oxydationsstufe im γ -Pyronring bei Flavonen basiert, ist in letzter Zeit fraglich geworden, nachdem F. GLOGGENGIESSER⁴⁷⁾ in *Polygonum orientale* Apigenin- und Luteolin-Glykoside isolieren konnten. Eine phytochemische Unterscheidung der Solanaceen ist bis jetzt nur zwischen diesen und den Labiäten⁴⁸⁾ möglich, da die Labiäten zur Bildung von sonst relativ wenig gefundenen Scutellarein- und Diosmetin-Glykosiden befähigt sind. Ein abschließendes Urteil wird man aber erst dann geben können, wenn noch weitere Pflanzenfamilien bearbeitet sind.

-
- | | |
|-------------------------------------|--|
| 44) GÖTZ, H., | Dissertation, München 1957. |
| 45) HÖRHAMMER, L. u.
HÄNSEL, R., | Arch. Pharmaz., Ber. dtsh. pharmaz. Ges. <u>287/59</u> , 189 (1954). |
| 46) HÖRHAMMER, L. u.
HÄNSEL, R., | Arch. Pharmaz., Ber. dtsh. pharmaz. Ges. <u>287/59</u> , 117 (1954). |
| 47) GLOGGENGIESSER, F., | Dissertation, München 1957. |
| 48) SEMRAU, R., | Dissertation, in Vorbereitung. |

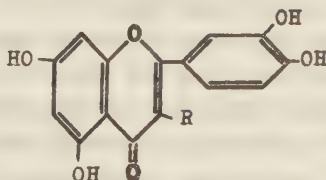
Durch unsere Untersuchungen über das Vorkommen cyclischer Pflanzensäuren in der Familie konnten wir feststellen, daß Kaffee- und Chlorogensäure in den meisten Pflanzen vorhanden sind. Die p-Cumarsäure war nicht nachzuweisen. Bezieht man unsere Untersuchungsergebnisse auf die Arbeiten von T. A. GEISSMAN und E. HINREINER⁴⁹⁾, T. A. GEISSMAN und J. B. HARBORNE⁵⁰⁾ und A. J. BIRCH, F. DANOVA und F. MOEWUS⁵¹⁾, so ergibt sich insofern eine Übereinstimmung, als in den Pflanzen, die Quercetin bzw. Luteolin enthalten, auch meistens Kaffeesäure bzw. Chlorogensäure, die als Vorstufen von Quercetin bzw. Luteolin gelten, nachgewiesen werden konnten (siehe Formeln 9 und 10).

Formel 9



Kaffeesäure

Formel 10



Quercetin : R = OH

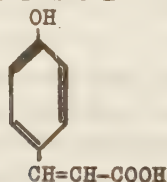
Luteolin : R = H

Geht man von der Annahme aus, daß neben den Endprodukten der Biogenese auch immer die entsprechenden Vorstufen gefunden werden, so müßte das Fehlen der p-Cumarsäure in den Solanaceen-Arten überraschen, da die p-Cumarsäure als eine Vorstufe des Apigenins bzw. Kämpferols⁵²⁾⁵³⁾ angesehen wird

-
- | | |
|---|---|
| 49) GEISSMAN, T.A. u.
HINREINER, E., | Bot. Rev. <u>18</u> , 77 (1952) |
| 50) GEISSMAN, T.A. u.
HARBORNE, J.B., | Arch. Biochem. Biophys. <u>55</u> , 447 (1955). |
| 51) BIRCH, A.J.
DANOVA, F. u.
MOEWUS, F., | Nature <u>172</u> , 902 (1953). |
| 52) BROWN, S.A. u.
NEISH, A.C., | J. Canad. Biochem. Physiol. <u>33</u> , 948 (1955). |
| 53) FREUDENBERG, K., | Angew. Chem. <u>68</u> , 84 (1956). |

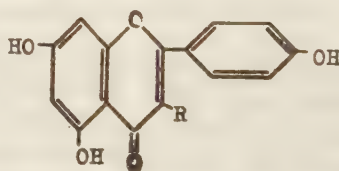
(siehe Formeln 11 und 12). Da jedoch in der Familie die Aglykone Kämpferol und Apigenin in einem geringeren Prozentsatz vorkommen als Quercetin und Luteolin, kann angenommen werden, daß die p-Cumarsäure nur in kleinen Mengen intermediär auftritt und sofort zur Synthese des Kämpferols bzw. des Apigenins verbraucht wird. Eine andere Überlegung wäre, daß die Tendenz zur Bildung von Quercetin und Luteolin geringer ist als die zur Synthese des Kämpferols und Apigenins, so daß die offenbar in großem Maße produzierte Kaffeesäure immer nachweisbar ist, während die in erheblich geringerem Maße auftretende p-Cumarsäure sofort in die Kondensationsreaktion zu Kämpferol bzw. Apigenin eintritt. Das Fehlen der p-Cumarsäure könnte fernerhin darauf zurückzuführen sein, daß diese Säure nur in bestimmten Vegetationsperioden, bzw. zu verschiedenen Jahreszeiten in stärkerem Maße gebildet wird und nur dann als solche nachzuweisen wäre. Hierüber liegt jedoch eine Arbeit von A. SCHERM⁵⁴⁾ vor, in der durch vergleichende jahreszeitliche Untersuchungen der cyclischen organischen Säuren von Polygonaceen

Formel 11



p-Cumarsäure

Formel 12



Apigenin : R = H
Kämpferol : R = OH

gezeigt wird, daß sich der Säuregehalt im Laufe der Vegetationsperiode nicht verändert, so daß auch diese Möglichkeit ausscheiden dürfte. Bei unseren Untersuchungen wurde

54) SCHERM, A.,

Dissertation, München 1955.

nicht berücksichtigt, daß die p-Cumarsäure auch verestert vorliegen könnte⁵⁵⁾, was aber bis heute nur sehr selten der Fall war.

Nachdem noch nicht grundsätzlich geklärt ist, ob die Endprodukte der Flavonbiogenese im allgemeinen von ihren Vorstufen begleitet sein müssen, wäre es verfehlt, auf Grund der bei unseren Untersuchungen festgestellten Abwesenheit der p-Cumarsäure die von T. A. GEISSMAN und E. HINREINER und von T. A. GEISSMAN und J. B. HARBORNE aufgestellten Theorien nicht zu bejahen. Abgesehen davon bleibt es fraglich, ob auf Grund der geringen Anzahl untersuchter Solanaceen-Arten überhaupt Schlußfolgerungen dieser Art berechtigt sind.

Um eine zusätzliche Klärung der Beziehungen zwischen Säuren und Flavonen herbeizuführen, dehnten wir unsere Untersuchungen auch auf polyploide Solanaceen-Arten aus. Wir konnten in dieser Hinsicht feststellen, daß die Bildung von Flavonen aus ihren biogenetischen Vorstufen, den cyclischen organischen Säuren, durch eine Polyploidisierung nicht wesentlich beeinflußt wird.

Unsere Untersuchungen an diploiden und tetraploiden Formen gleicher Solanaceen-Arten zeigten, daß die Polyploidisierung nur bei *Datura stramonium* eine qualitative Änderung des Flavongehaltes insofern bedingte, als die diploide Form fünf Flavonglykoside, die tetraploide Form dagegen sechs enthielt. Der Säuregehalt blieb der gleiche. Bei den *Nicotiana*-Arten war in keinem Fall eine qualitative Veränderung der Flavon- und Säuregarnitur aufgetreten. In zwei Fällen (*Nicotiana glauca*, *Nicotiana glauca*) zeigten Flavon- und Säuregehalt der diploiden Formen gegenüber den tetraploiden quantitative Unterschiede.

Es kann also abschließend gesagt werden, daß unsere Untersuchungen an polyploiden Pflanzen keine neuen Aspekte ge-

55) SHIROYA, M. Physiologia Plantarum 8, 594
SHIROYA, T. u. (1955).
HATTORI, S.

bracht haben.

Neben einem Beitrag zur Phytochemie der Solanaceenfamilie haben unsere Arbeiten zunächst nur statistischen Wert. Es werden noch zahlreiche Einzeluntersuchungen notwendig sein, um speziellere biogenetische Zusammenhänge zu klären, was nicht zuletzt davon abhängen wird, welche Fortschritte in der Isolierung anderer Inhaltsstoffe der Familie gemacht werden.

10) Tabellarische Zusammenstellung der in der Familie der Solanaceen vorkommenden Flavonglykoside, Aglykone und cyclischen organischen Säuren (Tab. 5 bis 7)

Zusammenstellung der Arten, in denen papierchromatographisch die Glykoside A, B und C festgestellt wurden.

Die Chromatographie der Glykoside erfolgte im Lösungsmittelsystem Äthylazetat-Ameisensäure-Wasser, 10+2+3.

Erklärungen: + = das betreffende Glykosid ist vorhanden,
 (+) = das betreffende Glykosid tritt nur schwach auf,
 - = das betreffende Glykosid ist nicht vorhanden.

T a b e l l e 5

Vorkommen von Rutin (R_F -Wert in Äthylazetat-Ameisensäure-Wasser = 0,32)

Name	Blätter	Blüten	Früchte
Nicotiana alata Link et Otto	+	+	
Nicotiana acuminata (Graham) Hooker	+		
Nicotiana bigelovii (Torrey) Watson	+		
Nicotiana forgetiana Hort. ex Hemsley	+		
Nicotiana glauca Graham	+		
Nicotiana glutinosa L.	+		
Nicotiana longiflora Cavanilles	+		

Fortsetzung: Tabelle 5

Name	Blätter	Blüten	Früchte
<i>Nicotiana Langsdorffii</i> Weinmann	(+)	+	
<i>Nicotiana rustica</i> var. <i>brasilica</i> L. Schrank	+	.	
<i>Nicotiana suaveolens</i> Lehmann	+		
<i>Nicotiana rustica</i> var. <i>texana</i> Naud	+		
<i>Nicotiana asiatica</i> Schult.	+		
<i>Nicotiana multivalvis</i> Lindley	+	+	
<i>Nicotiana quadrivalvis</i> Pursh	(+)	+	
<i>Nicotiana rustica</i> L.	+	+	
<i>Nicotiana silvestris</i> Spegazzini et Comes	+		
<i>Nicotiana tabacum</i> L.	+	+	
<i>Nicotiana paniculata</i> L.	+	+	
<i>Nicotiana rustica</i> var. <i>undulata</i> Vent.	+		
<i>Nicotiana trigenophylla</i> Dun.	+		
<i>Nicotiana rustica</i> L. var. <i>ovata</i>	+		
<i>Nicotiana rustica</i> L. var. <i>petiolaris</i>	+		

Fortsetzung: Tabelle 5

Name	Blätter	Blüten	Früchte
Nicotiana solanifolia Walpers	+		
Solanum demissum L.	+		
Solanum dulcamara L.	+		
Solanum sisymbriifolium Lam.	+		
Solanum luteum Mill.	(+)		
Solanum aviculare Forst.	+		
Solanum triflorum Nutt.	+		+
Solanum tuberosum L.	(+)		
Solanum lycopersicum L.	+		-
Solanum citrullifolium A. Br.	(+)		
Solanum cabiliensa argenta Hort. ex Vilmorin	+		
Solanum commersonii Dun.	(+)		
Solanum gracile Otto	(+)		
Solanum globiferum Dun.	+		
Solanum capsicastrum Lk.	(+)		
Solanum melongena L.	(+)		
Datura stramonium L.	+		

Fortsetzung: Tabelle 5.

Name	Blätter	Blüten	Früchte
<i>Physalis edulis</i> L.	+		-
<i>Physalis alkekengi</i> L.	+		
<i>Physalis peruviana</i> Mill.	+		
<i>Petunia nyctaginiflora</i> Juss.	+	+	
<i>Nicandra physaloides</i> (L.) Gaertn.	-		(+)
<i>Lycium halimifolium</i> Mill.	(+)		
<i>Scopolia lurida</i> (Link et Otto) Dun.	+		
<i>Hyoscyamus niger</i> L.	(+)		
<i>Hyoscyamus niger</i> L. Handelsware	+		
<i>Cestrum corymbosum</i> Schlechtendal	+		
<i>Nierembergia frutescens</i> Durieu	(+)	+	
<i>Nierembergia coerulea</i> Gill ex Miers	+		

T a b e l l e 6

Vorkommen von Hyperosid (R_f -Wert in Äthylazetat-Ameisensäure-Wasser = 0,51)

Name	Blätter	Blüten
Nicotiana forgetiana Hort. ex Hemsley	(+)	
Datura stramonium L.	(+)	
Datura tatula L.	(+)	
Hyoscyamus niger L.	(+)	
Physalis alkekengi L.	+	
Petunia nyctaginiflora Juss.	(+)	(+)
Nierembergia frutescens Durieu	+	-
Nierembergia coerulea Gill ex Miers	(+)	
Nicandra physaloides (L.) Gaertn.	(+)	
Atropanthe sinensis (Hemsley) Pascher	(+)	
Solanum citrullifolium A. Br.	+	
Solanum globiferum Dun.	+	

T a b e l l e 7

Vorkommen von Kämpferol-3-rhamnoglukosid

(R_F-Wert in Äthylazetat-Ameisensäure-Wasser = 0,44)

Name	Blätter	Blüten
Nicotiana forgetiana Hort. ex Hemsley	(+)	
Nicotiana Sandera rot Hort. ex Watson	+	(+)
Nicotiana Sandera weiß Hort. ex Watson	+	+
Nicotiana Langsdorffii Weinmann	-	+
Solanum cabiliensa argenta Hort. ex Vilmorin	+	
Solanum capsicastrum Lk.	+	
Solanum cervantesii Lagasco	+	
Solanum dulcamara L.	+	
Solanum melongena L.	(+)	
Solanum sodomaeum L.	+	
Solanum gilo Raddi	+	
Solanum verbascifolium H.B.K.	+	
Datura chlorantha Hook	+	
Datura suaveolens Humb. et Bonpl.	+	
Physalis peruviana Mill.	(+)	
Petunia nyctaginiflora Juss.	+	+
Atropanthe sinensis (Hemsley) Pascher	+	

T a b e l l e 8

1. Ergebnisse der systematischen Untersuchungen der Aglykone nach Hydrolyse der wässerigen Pflanzenauszüge.
Die Chromatographie erfolgte in zwei Lösungsmittelsystemen:
a) Isopropanol-Ameisensäure-Wasser = 2 + 5 + 5
b) Eisessig-Wasser = 6 + 4
2. Ergebnisse der systematischen Untersuchungen auf Kaffee-, Chlorogen- und p-Cumarsäure.
Die Chromatographie erfolgte in vier Lösungsmittelsystemen:
a) Athylazetat-Ameisensäure-Wasser = 10 + 2 + 3
b) n-Butanol-Eisessig-Wasser = 4 + 1 + 5
c) n-Butanol-Ameisensäure-Wasser = 4 + 1 + 5
d) 15%ige Essigsäure

Erklärung der Abkürzungen:

A = Blätter	Qu = Quercetin	Ka = Kaffeesäure
B = Blüten	R = Rhamnetin	Ch = Chlorogensäure
C = Früchte	K = Kämpferol	pC = p-Cumarsäure
D = Samen	L = Luteolir	
	Ap = Apigenin	

B.G.M.	=	Botanischer Garten München
B.G.K.	=	Botanischer Garten Karlsruhe
B.T.F.	=	Bundesanstalt für Tabakforschung in Forchheim/Baden
Lu.	=	Ludwigshafen/Rhein

+	=	das betreffende Aglykon, bzw. die betreffende Säure ist vorhanden
-	=	das betreffende Aglykon, bzw. die betreffende Säure ist nicht vorhanden

N a m e	Stand- ort	Sammel- zeit	Pflanzen- teil	A g l y k o n e					S ä u r e n		
				Qu	R	K	L	Ap	Ka	Oh	PO
<i>Lycium halimifolium</i> Mill.	Lu.	Mitte Aug.	A	+		+			+	+	-
<i>Atropanthe sinensis</i> (Hemsley) Pascher	B.G.M.	Mitte Juli	A	+		+			+	+	-
<i>Nicandra physaloides</i> (L.) Gaertn.	B.G.M.	Anf. Sept.	A C	+		+			+	+	-
<i>Cestrum corymbosum</i> Schlechtendal	B.G.M.	Mitte Juli	A	+		+			+	+	-
<i>Capsicum annuum</i> L.	B.G.K.	Mitte Aug.	A C D	+		+	+		+	-	-
<i>Capsicum annuum</i> L. var. <i>longer-galber</i> Cayenne	B.T.F.	Mitte Aug.	A				+	+	-	-	-
<i>Capsicum annuum</i> L. var. <i>mexicanum</i>	B.T.F.	Mitte Aug.	A				+	+	-	-	-
<i>Atropa belladonna</i> L.	B.G.M.	Mitte Aug.	A	+		+			+	+	-
<i>Atropa belladonna</i> L.	B.G.K.	Mitte Aug.	A	+					-	+	-
<i>Hyoscyamus niger</i> L.	B.G.M.	Mitte Aug.	A	+		+			+	+	-
<i>Hyoscyamus niger</i> L. Handelsware			A	+		+			+	+	-
<i>Hyoscyamus albus</i> L.	B.G.M.	Mitte Aug.	A	+		+			+	+	-

Fortsetzung: Tabelle 8

Name	Stand- ort	Sammel- zeit	Pflan- zen- teil	A g l y k o n e						S ä u r e n		
				Qu	R	K	L	Ap	Ka	Ch	pO	
Nierembergia coerulea Gill. ex Miers	B.G.M.	Mitte Juli	A	+		+				+	-	-
Nierembergia frutescens Durieu	B.G.M.	Ende Juli	A B	+	+	+		+		+	+	-
Scopolia carniolica (Link et Otto) Dun.	B.G.M.	Anf. Aug.	A			+		+		+	+	-
Scopolia lurida Jacq.	B.G.M.	Anf. Aug.	A	+		+				+	+	-
Browallia demissa L.	B.G.M.	Anf. Aug.	A	+		+				+	+	-
Petunia nyctaginiflora Juss.	B.G.M.	Anf. Aug.	A B	+	+	+		+		+	+	-
Physalis alkekengi L.	B.G.M.	Anf. Aug.	A	+			+			+	+	-
Physalis philadelphica Lam.	B.G.M.	Anf. Aug.	A C	+		+		+		+	+	-
Physalis peruviana Mill.	B.G.M.	Anf. Aug.	A	+		+		+		+	+	-
Physalis edulis L.	B.G.M.	Anf. Aug.	A C	+		+				+	+	-
Datura suaveolens Humb. et Bonpl.	B.G.M.	Ende Juli	A			+				-	-	-

Fortsetzung: Tabelle 8

N a m e	Stand- ort	Sammel- zeit	Pflan- zen- teil	A g l y k o n e						S ä u r e n		
				Qu	R	K	L	Ap	Ka	Ch	pC	
Datura chlorantha Hook.	B.G.M.	Ende Juli	A			+				-	-	-
Datura stramonium L.	B.G.M.	Ende Juli	A	+		+				+	-	-
Datura tatula L.	B.G.M.	Ende Juli	A	+		+				+	+	-
Solanum tuberosum L.	B.G.M.	Mitte Aug.	A	+						+	+	-
Solanum commersonii Dun.	B.G.M.	Mitte Aug.	A	+						+	+	-
Solanum gracile Otto	B.T.F.	Anf.Sept.	A	+	+					+	+	-
Solanum dulcamara L.	B.G.M.	Mitte Juli	A	+		+				+	+	-
Solanum lycopersicum L.	B.G.M.	Ende Juli	A C	+		+				+	+	-
Solanum nigrum L.	B.G.M.	Ende Juli	A	+		+				-	+	-
Solanum triflorum Nutt.	B.T.F.	Anf. Juli	A C	+		+			+	-	+	-
Solanum demissum L.	B.T.F.	Mitte Aug.	A	+		+			+	+	+	-
Solanum luteum Mill.	B.G.M.	Ende Aug.	A	+		+				+	+	-
Solanum sisymbirifolium Lam.	B.G.M.	Ende Aug.	A	+		+				+	+	-
Solanum melongena L.	B.G.M.	Ende Juni	A	+		+				+	+	-
Solanum gilo Raddi	B.T.F.	Anf.Sept.	A	+		+				+	+	-

Fortsetzung: Tabelle 8

N a m e	Stand- ort	Sammel- zeit	Pflan- zen- teil	A g l y k o n e					S ä u r e n		
				Qu	R	K	L	Ap	Ka	Ch	pC
<i>Solanum aviculare</i> Forst	B.G.M.	Ende Juli	A	+		+			-	+	-
<i>Solanum globiferum</i> Dun.	B.T.F.	Mitte Aug.	A	+		+			-	+	-
<i>Solanum citrullifolium</i> A. Br.	B.T.F.	Anf. Sept.	A	+		+			-	+	-
<i>Solanum sodomaeum</i> L.	B.T.F.	Mitte Aug.	A	+		+			+	-	-
<i>Solanum coccinthes</i> Lagasco	B.T.F.	Mitte Aug.	A	+		+			-	-	-
<i>Solanum verbascifolium</i> H.B.K.	B.T.F.	Mitte Aug.	A	+		+			-	-	-
<i>Solanum cabiliense</i> argenta Hort. ex Vilmorin	B.T.F.	Anf. Sept.	A	+		+			-	-	-
<i>Solanum capsicastrum</i> Ik.	B.G.M.	Ende Juni	A	+		+			-	-	-
<i>Solanum abutiloides</i> (Gries- bach) Ritter u. Lillo	B.T.F.	Anf. Sept.	A	+		+			-	-	-
<i>Nicotiana tabacum</i> L.	B.T.F.	Anf. Juli	A B	+		+			+	+	-
<i>Nicotiana rustica</i> L.	B.G.M.	Mitte Juli	A B	+		+			+	+	-
<i>Nicotiana rustica</i> L. var. ovata	B.T.F.	Anf. Juli	A	+		+			+	-	-
<i>Nicotiana rustica</i> L. var. texana Naud	B.T.F.	Anf. Juli	A	+		+			+	+	-

Fortsetzung: Tabelle 8

N a m e	Stand- Ort	Sammel- zeit	Pflan- zen- teil	A g l y k o n e						S ä u r e n		
				Qu	R	K	L	Ap	Ka	Ch	pC	
Nicotiana glutinosa L.	B.T.F.	Anf.Juli	A	+		+				+	+	-
Nicotiana glauca Graham	B.T.F.	Anf.Sept.	A	+				+		+	+	-
Nicotiana forgetiana Hort. ex Hemsley	B.T.F.	Mitte Aug.	A	+		+				+		-
Nicotiana silvestris Spegazzini et Comes	B.T.F.	Mitte Aug.	A	+		+				+		-
Nicotiana paniculata L.	B.T.F.	Anf.Juli	A B	+	+	+				+	+	-
Nicotiana trigenophylla Dun.	B.T.F.	Anf.Sept.	A	+						+	+	-
Nicotiana rustica var undulata Vent.	B.T.F.	Anf.Sept.	A	+						+	+	-
Nicotiana alata Link et Otto	B.T.F.	Anf.Juli	A B	+	+	+				+	+	-
Nicotiana acuminata (Graham) Hook.	B.T.F.	Mitte Aug.	A	+		+		+		+	+	-
Nicotiana suaveolens Lehmann	B.T.F.	Mitte Aug.	A	+		+				+	+	-
Nicotiana multivalvis Lindley	B.T.F.	Anf.Juli	A B	+	+	+		+		+	+	-

Fortsetzung: Tabelle 8

N a m e	Stand- ort	Sammel- zeit	Pflan- zen- teil	A g l y k o n e					S ä u r e n		
				Qu	R	K	L	Ap	Ka	Ch	pC
Nicotiana bigelovii (Torrey) Watson	B.T.F.	Anf. Sept.	A	+		+		+	+	+	-
Nicotiana Langsdorffii Weinmann	B.T.F.	Anf. Juli	A B	+		+		+	-	+	-
Nicotiana longiflora Cavanilles	B.G.M.	Mitte Aug.	A	+		+		+	+	+	-
Nicotiana Sandera rot = Nic. forgetiana x Nic. alata Hort. ex Watson	B.T.F.	Anf. Juli	A B	+		+		+	+	+	-
Nicotiana Sandera weiß = Nic. forgetiana x Nic. alata Hort. ex Watson	B.T.F.	Anf. Juli	A B	+		+		+	+	+	-
Nicotiana rustica L. var. petiolaris	B.T.F.	Mitte Aug.	A	+		+			+	-	-
Nicotiana rustica L. var. brasiliica	B.T.F.	Mitte Aug.	A	+		+			+	-	-
Nicotiana asiatica Schult.	B.T.F.	Mitte Aug.	A	+		+			+	+	-
Nicotiana solanifolia Walpers	B.T.F.	Mitte Aug.	A	+		+			+	-	-
Nicotiana quadrivalvis Pursh	B.T.F.	Anf. Juli	A B	+		+			+	+	-

III. Experimenteller Teil

1) Herkunft, Sammelzeit und Trocknung der Pflanzen

Die von uns untersuchten Pflanzen stammten zum größeren Teil aus den Anbauflächen der Bundesanstalt für Tabakforschung in Forchheim/Baden^{*)}, ferner aus den Botanischen Gärten München^{**)} und Karlsruhe. In einzelnen Fällen griffen wir auf die übliche Handelsware zurück.

Die Sammlung erfolgte in der Zeit der üppigsten Vegetation also in den Monaten Juni, Juli, August und September. Zur Untersuchung gelangten in den meisten Fällen die Blätter, oder voneinander getrennt, Blätter, Blüten, Früchte und Samen.

Um eine weitgehende Stabilisierung der Pflanzeninhaltsstoffe zu erreichen, verzichteten wir auf den langsamen Lufttrocknungsvorgang und zogen die schnellere mechanische Trocknung vor.

Das so vorbereitete, frischgrüne Pflanzenmaterial wurde dann grob gepulvert im Soxhlet weiterverarbeitet.

2) Herstellung des Gesamtauszuges

Jeweils 20 bis 30 g der grob gepulverten, getrockneten Drogen wurden im Soxhlet mit Methanol erschöpfend extrahiert. Das Methanol wurde abdestilliert und der dickflüssige, dunkelgrüne Extrakt zur Entfernung des Chlorophylls mehrmals in kleinen Anteilen mit heißem Wasser digeriert und dann noch heiß durch Watte gegossen. Dieses Filtrat enthielt nur noch geringe Mengen Chlorophyll. Um diese zu entfernen, wurde der Ro-

*) **) Frau Dr. G. Koelle von der Bundesanstalt für Tabakforschung in Forchheim/Baden und Herrn Professor Dr. L. Brauner, Direktor des Botanischen Instituts der Universität München, danken wir für die Überlassung des Pflanzenmaterials.

extrakt auf dem Wasserbad in einer Porzellanschale eingedampft, wobei sich das restliche Chlorophyll am Rande der Schale in Flocken absetzte. Oft schied sich nach dem Filtrieren noch ein brauner Bodensatz ab, der abzentrifugiert wurde. Der so gereinigte Extrakt war nun bereit für die weitere Aufarbeitung.

3) Aufarbeitung des Gesamtauszuges für papierchromatographische Untersuchungen

Um den Gesamtextrakt von störenden Ballaststoffen zu befreien, wurde er mit einem organischen Lösungsmittel ausgeschüttelt.

Am zweckmäßigsten erwies sich Äthylazetat, mit dem wir jeden Drogengesamtauszug 10- bis 30mal behandelten, bis das überstehende Lösungsmittel farblos war.

Die Äthylazetatfraktionen wurden vereinigt und auf ein geringes Volumen eingengt.

Es waren nun insgesamt drei, sich durch ihre flavonischen Inhaltsstoffe unterscheidende Extraktfraktionen vorhanden:

- | | |
|--|----|
| 1. Der Gesamtauszug | A |
| 2. Die Äthylazetatausschüttelung | B |
| 3. Die wässrige Phase des Gesamtauszuges | C. |

Für die Herstellung der Papierchromatogramme wurden ausschließlich die beiden letzten Fraktionen verwendet. In der Äthylazetatfraktion B waren sämtliche Flavonverbindungen mit R_f -Werten oberhalb dem des Rutins enthalten. In der wässrigen Phase des Gesamtauszuges C waren die in den Solanaceendrogen vorherrschenden hydrophilen Flavone enthalten. Der Rest des Gesamtauszuges A wurde in kleinen Flaschen, gut verkorkt und mit einer Ätherschicht versehen,

um eine Schimmelbildung zu verhindern, zurückgestellt.

4) Hydrolyse

a) Hydrolyse der Extrakte

Um alle in den Drogenextrakten enthaltenen Flavone der hydrolytischen Spaltung zuzuführen, wurde hierzu der wässrige Gesamtauszug (A) herangezogen. Die wässrige Phase des Gesamtauszuges (C) und die Athylazetatausschüttelung (B) wurden nicht verwendet.

Zu 5 ml Extrakt wurde die gleiche Menge einer 10%igen Schwefelsäure gegeben und in einem Reagensglas zunächst eine Stunde lang im siedenden Wasserbad am Rückflußkühler erhitzt. Bei einigen wenigen Extrakten stellten wir durch papierchromatographischen Vergleich zwischen dem Hydrolysat und der unhydrolysierten Lösung fest, daß noch keine oder nur eine teilweise Abspaltung der Zuckerkomponente erfolgt war. In solchen Fällen wurde die Hydrolyse drei Stunden lang durchgeführt.

Das Hydrolysat filtrierten wir nach dem Erkalten, um es von Ballaststoffen zu reinigen und schüttelten die Aglykone mit Äther so lange aus, bis die überstehende organische Phase farblos blieb. Dazu waren im allgemeinen 5 bis 6 Ausschüttelungsvorgänge nötig. Zur Entsäuerung wurde die aglykonhaltige Ätherphase mehrmals mit Wasser ausgewaschen, auf dem Wasserbad bis auf wenige ml eingeeengt und chromatographiert.

b) Hydrolyse reiner Glykoside

Die Hydrolyse reiner Glykoside erfolgte in gleicher Weise mit 5%iger bzw. 10%iger Schwefelsäure. 5 ml der methanolischen Glykosidlösung wurden mit der gleichen Menge Säure eine bzw. vier Stunden lang am Rückflußkühler hydrolysiert und der Alkohol nach Verdünnen mit etwa 20 ml Wasser abgedampft. Das Aglykon wurde mit Äther ausgeschüttelt und durch Waschen mit Wasser die Säure entfernt. Mit Hilfe der Papierchromatographie prüften wir jedesmal, ob die hydrolytische Spaltung vollkommen war.

5) Nachweis der Zucker

Die schwefelsaure, zuckerhaltige Hydrolysenlösung wurde mit Hilfe des stark basischen Anionenaustauschers Dowex 2⁵⁶⁾ der Firma DOW Chemical Company neutralisiert. Um das Harz von löslichen Stoffen zu befreien, reinigten wir es in einer Bürette durch Waschen mit Wasser, n-Natronlauge und n-Salzsäure⁵⁷⁾. Die Neutralisation und Regenerierung des Harzes erfolgte mit einer gesättigten Natriumbikarbonatlösung in 70%igem Äthanol und anschließendem Nachwaschen mit Spiritus dilutus DAB 6.

56) PIETZ, K.A.
TOOPER, E.B. u.
FODSTICK, L.S.,

J. Biol. Chemistry
194, 669 (1952).

57) HÖRHAMMER, L.
VORNDRAN, E. u.
WAGNER, H.,

Arch. Pharmaz., Ber. dtach.
pharmaz. Ges. 289/61, 316
(1956).

Die auf dem Wasserbad auf 20 ml eingeengt Hydrolysenlösung wurde nach dem Erkalten tropfenweise auf das Harz gegeben und mit 5 ml 70%igem Äthanol nachgewaschen. Die abtropfende Lösung prüften wir von Zeit zu Zeit auf Neutralität. Nachdem die Zuckerlösung auf dem Wasserbad nochmals bis auf wenige ml eingeengt wurde, trugen wir die neutralisierte Hydrolysenlösung abwechselnd mit Proben authentischer Zucker, punktförmig 6 cm vom unteren Rand des Chromatogrammbogens entfernt, auf. Wir chromatographierten absteigend im Lösungsmittel Pyridin-Äthylacetat-Wasser (1+2+2).

Zum Entwickeln der Zuckerchromatogramme besprühten wir diese mit Anilinphthalatlösung⁵⁸⁾:

1,66 g o-Phthalsäure und 0,93 g Anilin löst man in 100 ml wassergesättigtem Butanol.

Die fertigen Chromatogramme wurden 10 Minuten lang im Trockenschrank bei 110° C getrocknet. Die Aldohexosen erscheinen im Tageslicht mit brauner und die Aldopentosen mit braunvioletter Farbe.

b) Lösungsmittelsysteme

Für die durchgeführten papierchromatographischen Untersuchungen wurden folgende Lösungsmittelsysteme verwendet. Die angegebenen Zahlenverhältnisse stellen in jedem Falle Raumteile dar.

58) PARTRIDGE, M.,

Nature (London) 164, 493
(1949).

1. Äthylazetat-Ameisensäure-Wasser = 10+2+3;
System nicht mischbar;
verwendet wurde die Oberphase;
Laufzeit 7 bis 8 Stunden;
Sättigung der Kammer mit der wässerigen Unterphase;
Anwendungsgebiet: I) Trennung von Glykosiden,
II) Trennung von organischen Säuren.
2. n-Butanol-Eisessig-Wasser = 4+1+5;
System nicht mischbar;
verwendet wurde die Oberphase;
Laufzeit 22 bis 24 Stunden;
Sättigung der Kammer mit der wässerigen Unterphase;
Anwendungsgebiet: I) Trennung von Glykosiden hydro-
phober Natur,
II) Trennung von organischen Säuren.
3. Isopropanol-Ameisensäure-Wasser = 2+5+5;
System mischbar;
Laufzeit 6 bis 7 Stunden;
Sättigung der Kammer mit dem System;
Anwendungsgebiet: Trennung von Aglykonen.
4. Eisessig-Wasser = 6+4;
System mischbar;
Laufzeit 23 bis 25 Stunden;
Sättigung der Kammer mit dem System;
Anwendungsgebiet: Trennung von Aglykonen.

5. Pyridin-Äthylazetat-Wasser = 1+2+2;
System nicht mischbar;
verwendet wurde die Oberphase;
Laufzeit 14 Stunden;
Sättigung der Kammer mit der wässerigen Unterphase;
Anwendungsgebiet: Trennung von Zuckern.
6. n-Butanol-Ameisensäure-Wasser = 4+1+5;
System nicht mischbar;
verwendet wurde die Oberphase;
Laufzeit 22 bis 24 Stunden;
Sättigung der Kammer mit der wässerigen Unterphase;
Anwendungsgebiet: Trennung von organischen Säuren.
7. 15%ige Essigsäure;
Laufzeit 10 bis 11 Stunden;
Sättigung der Kammer mit dem System;
Anwendungsgebiet: Trennung von organischen Säuren.

7) Farbteste und chemische Reaktionen

a) Entwickeln der Papierchromatogramme

Im gefilterten UV-Licht erscheinen Flavonester und Flavon-3-Glykoside in unbesprühtem Zustand als dunkelbraune Flecken; Flavonole (freie OH-Gruppe am C₃-Atom) dagegen zeichnen sich durch intensives gelbes Leuchten aus.

Daneben treten im UV-Licht noch andere fluoreszierende Zonen hervor: In erster Linie die stark blau fluoreszierenden Pflanzensäuren, die gut erkennbaren violetten Anthocyan-

flecke und die rot gefärbten Anthrachinonderivate.

Nach dem Besprühen der fertigen Papierchromatogramme mit einer 5%igen wässerigen Aluminiumsulfatlösung und anschließendem Trocknen, ist unter der UV-Lampe folgendes zu erkennen: Flavone und Flavonol-3-glykoside erscheinen gelb, Flavonole jedoch gelbgrün.

An Stelle der Aluminiumsulfatlösung kann auch eine solche von Aluminiumchlorid verwendet werden. Jedoch sind die Farbkomplexe, die erstere Lösung herbeiführt, länger haltbar.

Eine weitere spezifische Methode zum Entwickeln der Chromatogramme bietet das Besprühen mit Liquor Plumbi subazetici DAB 6. Hier sind Rückschlüsse auf die Konstitution am Seitenphenyl zu ziehen, im besonderen aber über die C_3 , $-C_4$, -Gruppierungen⁵⁹⁾. Ein orangefarbener Bleikomplex bildet sich beim Vorhandensein von orthoständigen Hydroxylgruppen am Seitenphenyl. Die übrigen flavonoiden Verbindungen zeigen gelbe und gelbgrüne Farbtöne.

Zu bemerken ist noch, daß die Beständigkeit des Bleikomplexes bei weitem nicht so groß ist, wie die der Aluminiumkomplexe. Die Intensität läßt bald nach, und nach nochmaligem Besprühen mit Liquor Plumbi subazetici DAB 6 wird die ursprünglich starke Farbtönung nicht wieder erreicht.

Die folgende Tabelle 9 zeigt eine Zusammenstellung der verschiedenen Farbtönungen einiger Aglykone:

59) PAECH, K. u.
TRACEY, M. V.,

Moderne Methoden der Pflanzenanalyse, III, S. 487, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1955.

T a b e l l e 9

Aglykone	unbehandelt	besprüht mit Alum.sulf.Lsg.	besprüht mit Bleiazetat
Quercetin	gelb	gelbgrün	orange
Kämpferol	gelb	gelbgrün	gelbgrün
Luteolin	dunkel	gelb	orange
Apigenin	dunkel	gelb	gelb
Rhamnazin	gelb	gelbgrün	gelb
Rhamnetin	gelb	gelbgrün	orange
Morin	dunkelgelb	grün	gelb
Fisetin	gelb	gelb	ziegelrot
Scutellarein	dunkelbraun	orangebraun	bräunlich-dunkelgrün

b) Zirkon-Zitronensäure-Test⁶⁰⁾⁶¹⁾

Die getrennten Substanzen wurden auf dem Papier mit wenig Zirkonylchloridlösung und nach dem Trocknen mehrmals kräftig mit einer frisch bereiteten Zitronensäurelösung besprüht. Nach dieser Behandlung fluoreszierten nur die Flecken derjenigen Flavonverbindungen gelb, die am C₃-Atom eine freie OH-Gruppe tragen. Waren die Flecke gelöscht, so wurden sie auf dem Papier 2 Minuten lang warmen Salzsäure-

60) HORNHAMMER, L. u.
HANSEL, R.,

Arch. Pharmaz., Ber. dtsh. pharmaz. Ges. 284/56, 276 (1951).

61) HORNHAMMER, L. u.
HANSEL, R.,

Arch. Pharmaz., Ber. dtsh. pharmaz. Ges. 287/59, 310 (1954).

nebeln ausgesetzt, wobei Flavonol-3-glykoside zu gelb fluoreszierenden Aglykonen hydrolysierten, während C₅-Oxyflavone auch nach der Hydrolyse auf dem Papier gelöscht blieben.

Reagentien: 2%ige methanolische Zirkonylchloridlösung,
5%ige Zitronensäurelösung,
25%ige Salzsäure.

c) Tauböck-Test ⁶²⁾⁶³⁾

Einige ml des Gesamtextraktes dampften wir in einem Porzellanschälchen auf dem Wasserbad zur Trockene ein und lösten den Rückstand in 5 ml Azeton. Nach Zusatz von wenigen Milligramm gleicher Teile Bor- und Oxalsäure brachten wir die Lösung abermals zur Trockene. Der Rückstand wurde in Äther aufgenommen. Bei Anwesenheit der 4-Keto-5-oxygruppe oder 4-Keto-3-oxygruppe ⁶⁴⁾ im Molekül eines Flavonoids zeigt die ätherische Lösung eine gelbe Farbe, unter dem UV-Licht eine gelbgrüne Fluoreszenz.

d) Sprühtest zur Unterscheidung von Scutellarein und Luteolin

Die Aglykone Scutellarein und Luteolin haben den gleichen R_F-Wert (I-A-W: R_F-Wert = 0,40) ^{*)}. Mit den üblichen Sprüh-

62) WILSON, C.W.,

J. Amer. chem. Soc. 61, 2303 (1939).

63) TAUBÖCK, K.,

Naturwissenschaften 30, 439 (1942).

64) HÖRHAMMER, L. u.
HÄNSEL, R.

Arch. Pharmaz., Ber. dtsh. pharmaz. Ges. 286/58, 447 (1953).

*) I-A-W = Isopropanol-Ameisensäure-Wasser, 2+5+5.

reagenzien Aluminiumsulfatlösung bzw. basischem Bleiazetat ist eine Unterscheidung wohl möglich (siehe Tabelle 9, S. 54), jedoch wurde eine genauere Differenzierung durch den von R. SEMRAU ⁶⁵ entwickelten Sprühtest erreicht.

Besprüht man Scutellarein auf dem Papierchromatogramm mit Barytwasser DAB 6, so ist bei UV-Licht eine grüne bis smaragdgrüne Fluoreszenz zu sehen. Bei längerer Beobachtung ist eine Aufhellung ins Gelbgrüne und nach 30 bis 60 Minuten eine leichte Gelbfärbung zu erkennen. Luteolin dagegen färbt sich mit Barytwasser gelb; nach einiger Zeit erfolgt eine Abschwächung der Farbtintensität, jedoch bleibt der gelbe Farbcharakter bestehen.

Der Sprühtest soll mit wenig Barytwasser ausgeführt werden.

8) Isolierung der p-Cumarsäure

Zur Isolierung von p-Cumarsäure ⁶⁶ wurden 205 g Aloe-Extrakt 30 Minuten lang mit 410 ml 10%iger Natronlauge am Rückflußkühler gekocht, nach dem Erkalten filtriert, mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und mit 4 Liter Äther 12mal ausgeschüttelt. Nach dem Abdampfen des Äthers hinterblieben leicht rosa gefärbte, feinkristalline Nadeln der p-Cumarsäure, die durch Umkristallisieren aus heißem Wasser unter Zusatz von Tierkohle gereinigt wurden. Ausbeute: 390 mg. Schmelzpunkt: 206° C.

65) SEMRAU, R.,

Dissertation, München, in Vorbereitung.

66) BEILSTEIN, F.,

Handbuch der organischen Chemie, X, S. 297, Berlin, 1927.

L e b e n s l a u f

Am 15. Dezember 1927 wurde ich als Sohn des Apothekers Josef Müller und seiner Ehefrau Friederike, geb. Lüttinger, in Ludwigshafen/Rh. geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule trat ich 1938 in die Oberrealschule an der Leuschnerstraße in Ludwigshafen ein. Von Juli 1943 bis Oktober 1944 war ich als Luftwaffenhelfer in meiner Heimat und in Auschwitz eingesetzt und nach Ableistung des RAD-Dienstes wurde ich im Januar 1945 zur Wehrmacht einberufen. Nach der Entlassung aus amerikanischer Kriegsgefangenschaft bestand ich im März 1948 das Abitur und trat im Anschluß daran als Apothekerpraktikant in die Hirsch-Apotheke in Ludwigshafen ein.

Nach dem pharmazeutischen Vorexamen schloß ich das sechssemestrige Studium an der Technischen Hochschule in Karlsruhe/Bd. am 30. 7. 1953 mit dem Staatsexamen ab. Seit Juni 1954 bin ich am Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München mit den vorliegenden Untersuchungen beschäftigt.

